

枯草菌となかよしの天然農薬を探せ！～持続可能な農業を目指して～

生物班：西 理緒、山本 純礼

Abstract

The purpose of this study is to identify natural pesticides that do not interfere with the activities of *Bacillus subtilis*. Experiments using media revealed that pH affects the proliferation of *Bacillus subtilis*, and an experiment using soil showed that natural pesticides did not make a significant difference to the growth of radish sprouts. Therefore, this study concluded that any natural pesticide doesn't inhibit *Bacillus subtilis* propagation if adjusting the natural pesticide.

要約

本研究の目的は、枯草菌の働きを妨げない天然農薬を明らかにすることである。培地を用いた実験より、pHが枯草菌の繁殖に影響をあたえる事がわかり、土壌での実験より、天然農薬によってかいわれ大根の成長に大きな差は生じなかった。したがって本研究では、天然農薬の濃度を調整すればどの天然農薬でも枯草菌の繁殖を妨げないと結論づけた。

1. はじめに

枯草菌とは、空気中や土壌の中など、自然界にどこにでも存在する細菌の一種である。タンパク質を分解する酵素や炭水化物を分解する酵素を大量に生産することで知られ、人の暮らしのさまざまな分野で利用されており、特に枯草菌は、農業において、有用な微生物の一つとして注目されている。その理由は、土壌の質を向上させ、植物の栄養吸収を助けるからである。(⑥より)先行研究(参考文献②)”枯草菌が産生する抗生物質に関する研究”から、枯草菌は抗生物質を産生して特定の菌の増殖を抑制していることがわかるため、枯草菌は植物を病害から保護し、化学肥料や農薬の使用を減らすことで、持続可能な農業に貢献している。これらのことを知り、私達は枯草菌に興味を持つようになった。

そこで私達は、枯草菌のはたらきを阻止することなく、農業の質を向上させる天然農薬を見つけようとの研究を始めた。農薬を天然に限ったのは、化学肥料を使用することなく、枯草菌の有効な利用を見つけるためである。枯草菌は孢子を形成し、乾燥や熱などの過酷な環境にも耐えられるため(⑥より)、これらは枯草菌の繁殖には影響しにくいと考え、私達は、枯草菌の特徴より最適pH7から8.5(⑦より)に近い天然農薬ほど枯草菌の繁殖を妨げないという仮説を立てた。

2. 研究手法

本研究では、枯草菌の一種であり、扱いやすい納豆菌を、利用して研究した。また、本研究での天然農薬は化学合成した農薬ではなく自然物から作られた農薬のことを表す。本研究では身近にあり扱いやすい葉ネギ液、木酢酢、酢、草木灰、唐辛子にんにく液を使用する。

はじめにLB培地を作る。蒸留水200mlにトリプトン2.0g、酵母エキス1.0g、塩化ナトリウム2.0g、粉末寒天3.08gを加えて加熱溶解する。121℃、15分でオートクレーブをかけ、クリーンベンチで溶解した培地のもとをシャーレの半分程度になるくらいに流し込む。(①)また、実験で使用使用する液体培地はこのLB培地に寒天を入れていないものである。

それぞれの天然農薬のpHは右図の通りである。

《実験1》

LB培地に枯草菌を塗り拡げ、枯草菌を繁殖させる。

図1 天然農薬のpH

天然農薬の種類	pH
酢	3.95
草木灰	6.1
木酢酢	6.13
葉ネギ液	5.71

①天然農薬の葉ネギ液、木酢酢、酢を塗ったLB培地と何も塗っていない対象実験用のLB培地を用意する。

②①の培地に1000倍希釈した納豆菌の懸濁液をループを使って塗り広げる。

《実験2》

液体培地に枯草菌と天然農薬を加え、枯草菌を繁殖させる。

①液体培地が入った試験管に実験1の天然農薬に加えて、草木灰、唐辛子にんにく液をそれぞれ全体の1%、3%、5%になるようにピペットを用いて入れる。

②①の試験管にループを用いて1000倍希釈した納豆菌の懸濁液を入れる。

③1日、浸透培養器にかけ、培養する。

④③の液体培地をさらに100倍、1000倍に希釈しLB培地に塗り数日間観察する。

《実験3》

阻止円の実験

①1cm×1cmのろ紙に実験③と同じ天然農薬を染み込ませる。

②LB培地に納豆菌の懸濁液をループを使って塗り広げる。

③②の培地の上に①のろ紙を置き、数日間培養する。

《実験4》

培養土に、天然農薬と枯草菌を加えてかいわれ大根を育てる

何も加えないもの、枯草菌のみのもの、枯草菌と実験3と同じ天然農薬をそれぞれ加えたものに分けて実験を行った。

①2Lペットボトルを横向きに上部を切り、そこに赤玉土を砕いたものとバーミキュライトを2:1の割合で混ぜた土を入れる。ペットボトルを全部で七個用意する。

②それぞれの天然農薬と1000倍希釈した枯草菌の懸濁液を土に混ぜる。

③発芽させたカイワレ大根を、それぞれのペットボトルに、30個ずつ植える。

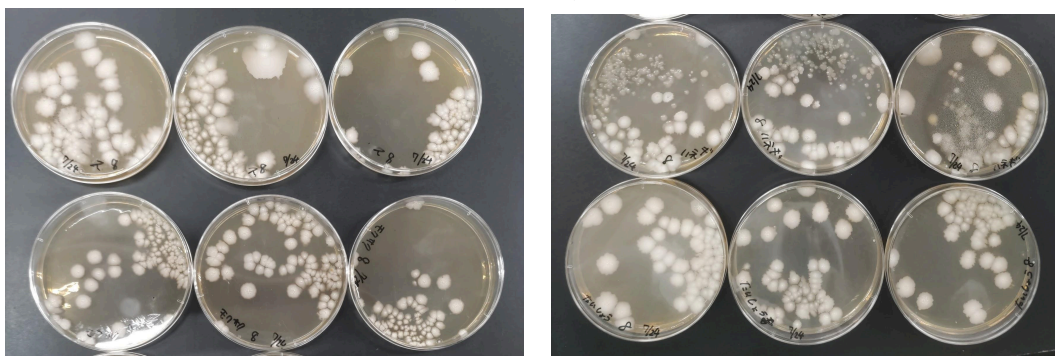
④毎日本水をやり、天然農薬を加えたものはそれぞれの用法に従い、天然農薬を与え、数日間かいわれ大根の成長を観察する。

3. 結果・考察

《実験1の結果》

どの培地にも納豆菌が繁殖したが、培地によって違いは見られなかった。

図2-1 実験1の写真 培養後の培地の様子



(左上3つ)酢(左下3つ)木酢酢(右上3つ)葉ネギ液(左下3つ)対象実験用

《実験1の考察》

実験1では天然農薬による枯草菌の繁殖の違いが分からなかった。そのため、天然農薬が入った液体培地の中で枯草菌を繁殖させる実験2を行った。

《実験2の結果1》

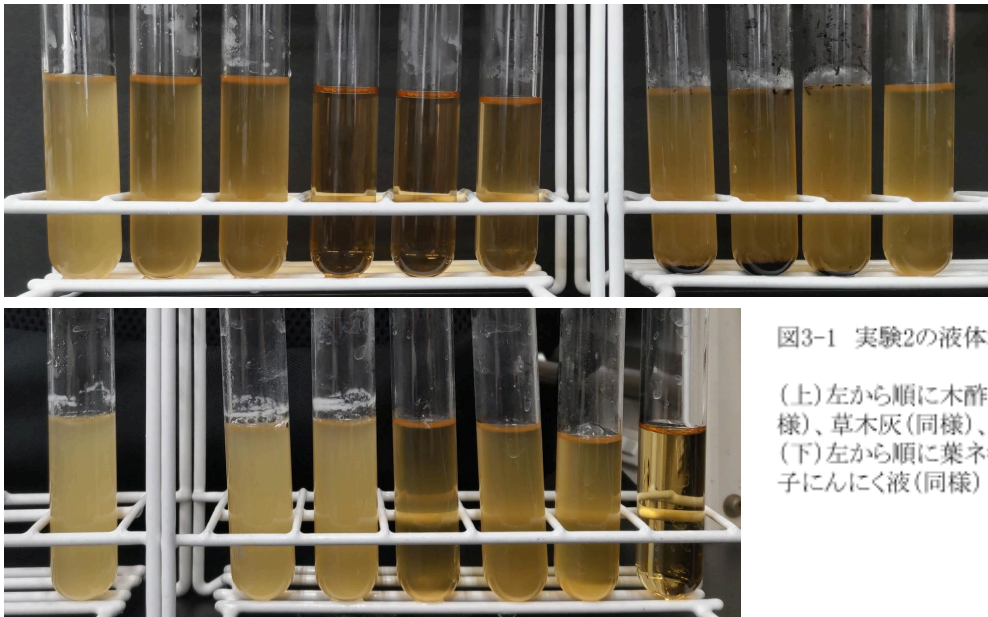


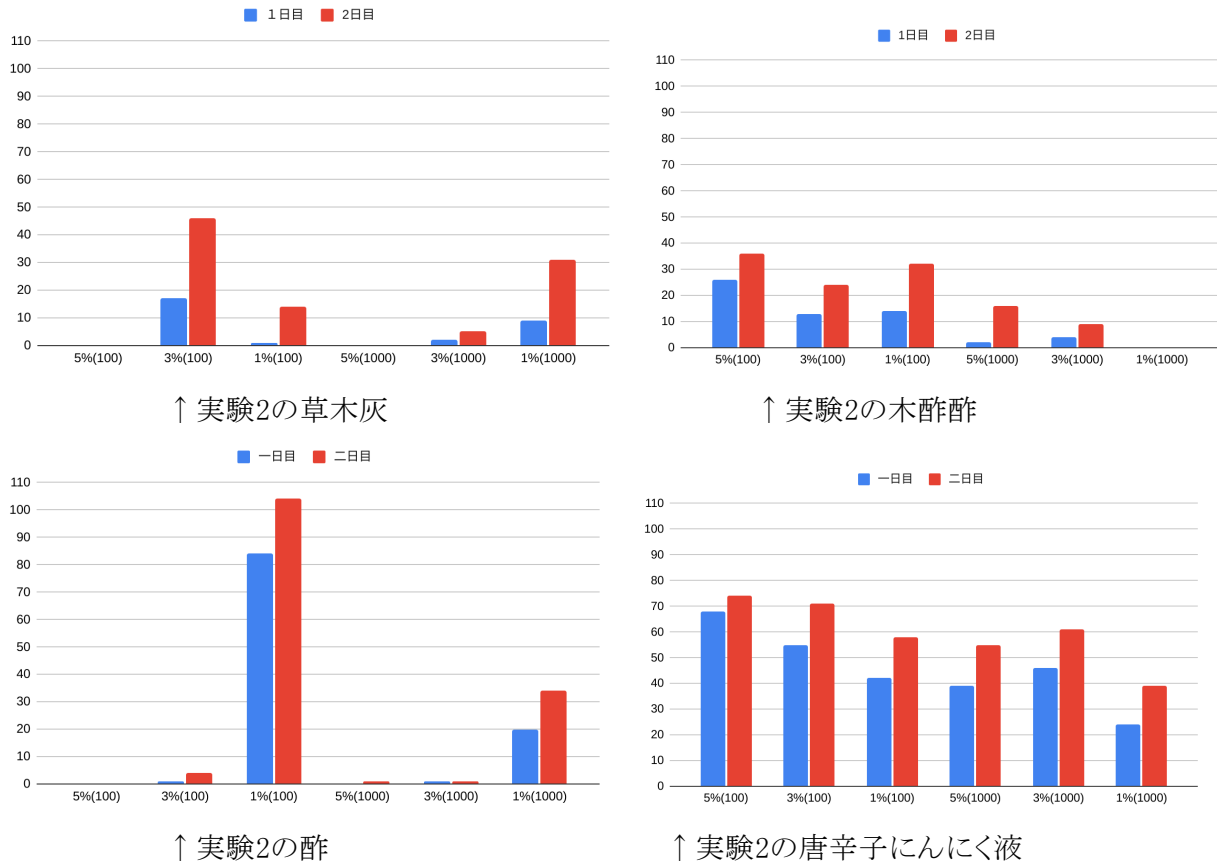
図3-1 実験2の液体培地の様子

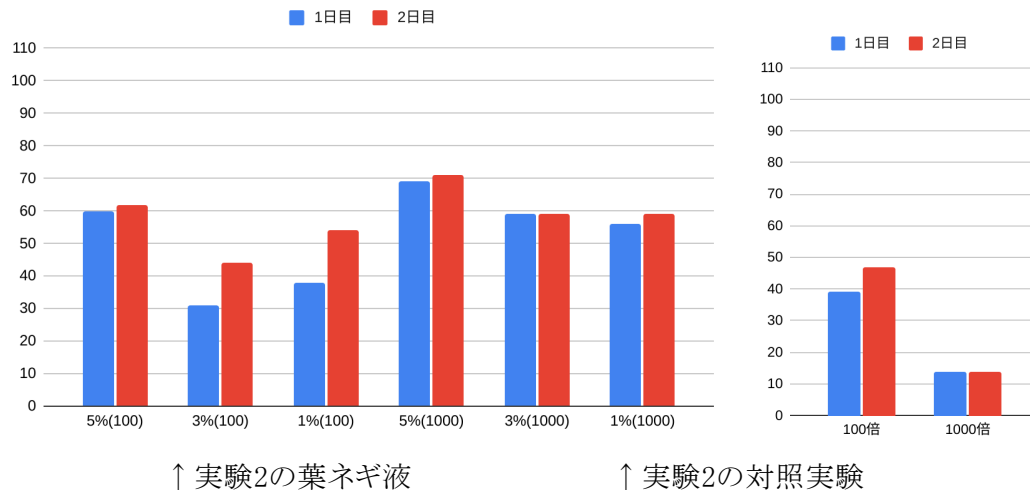
(上)左から順に木酢酢(5%,3%,1%の順)、酢(同様)、草木灰(同様)、対照実験(1本)
 (下)左から順に葉ネギ液(5%,3%,1%の順)、唐辛子にんにく液(同様)

液体培地の濃さを、見比べたとき、葉ネギ、木酢酢、草木灰、唐辛子にんにく液、対照実験(枯草菌のみ)、酢の順に白く濁っていることが分かる。白く濁っているほど枯草菌が繁殖していることを表している。

《実験2の結果2》

図3-2 LB培地の枯草菌が繁殖した繁殖度数





液体培地の菌濃度を比較した後、液体培地の中の枯草菌を寒天培地上に塗り拡げ、1日培養したものを比較すると、草木灰の培地では、液体培地の希釈が100倍、1000倍で、それぞれ草木灰の割合が増えるごとに、コロニーの数も増えていっていることが分かった。木酢酢では、100倍、1000倍の3%と1%は、よくコロニーが繁殖しているが、5%は、コロニーが見られなかった。葉ネギ液、唐辛子にんにく液では、どの割合でも多くのコロニーが繁殖していた。酢では、100倍、1000倍の3%、5%のときはほとんどコロニーが見られず、1%のときだけ多くのコロニーが見られた。酢の割合が1%の培地のときに多くのコロニーが見られたことを疑問に思い、再度同じ実験を行ったが同じような結果になった。今回はコロニーの数を正確に数えられなかったため、培地の直径を一辺の長さとする正方形を12×12マスに区切り、枯草菌があるマスの数を数え、枯草菌の占める面積の割合を繁殖度として比較した。グラフより、100倍希釈したものの中では酢の1%で繁殖度が最も大きいことがわかった。全体を比べてみると、唐辛子にんにく液、葉ネギ液が枯草菌のみよりも繁殖度が大きい。一方、酢(3%、5%)、草木灰、木酢酢は対照実験と比べて繁殖度が小さいことが分かった。

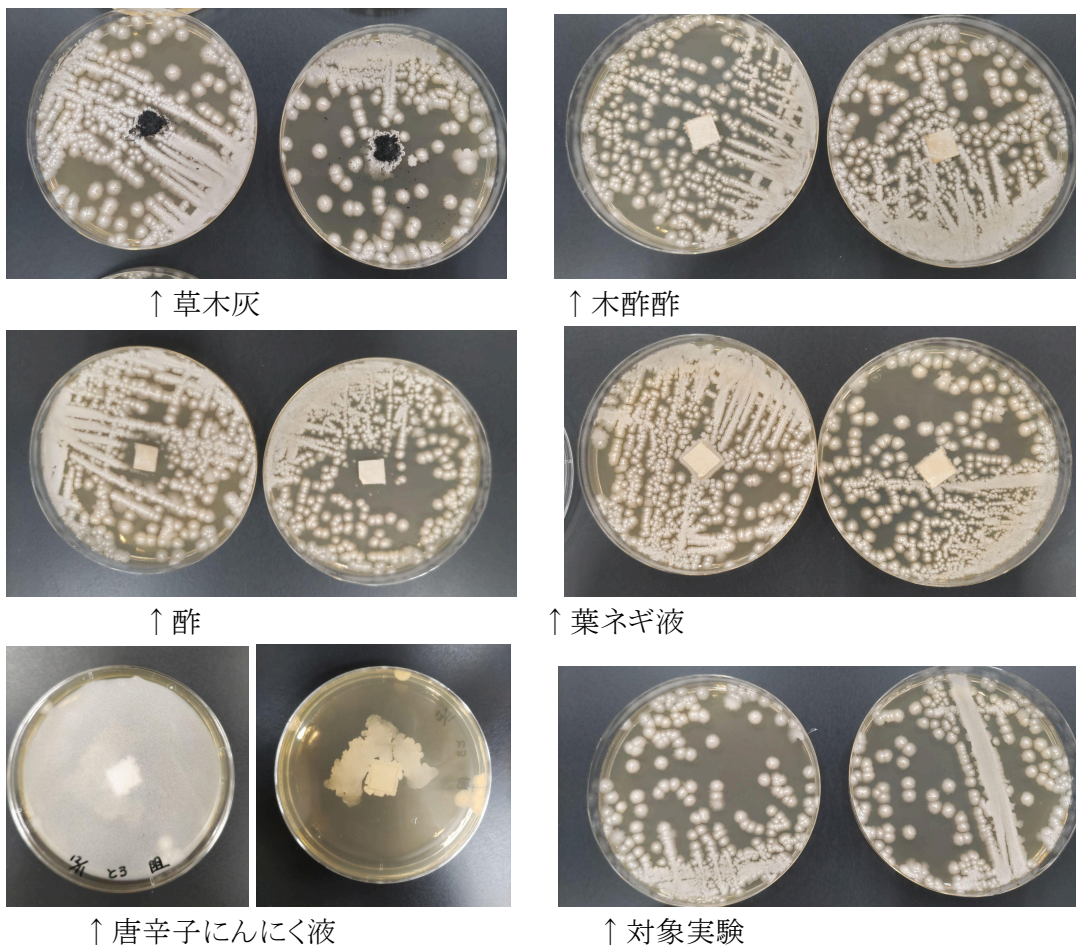
《実験2の考察》

全体的に見ると、特に葉ネギ液、唐辛子にんにく液の培地で枯草菌の繁殖を妨げないことが分かる。更に、対照実験の培地よりも枯草菌が繁殖しているため、枯草菌の繁殖を促す効果があるといえる。また、100倍希釈した酢1%の培地が最も枯草菌が繁殖していることから、薄めた酢の場合は枯草菌の繁殖を妨げず、最も枯草菌の繁殖を促す効果があると考えた。一方、酢(3%、5%)、草木灰、木酢酢は枯草菌の繁殖を妨げることがわかった。酢のように元のpHが枯草菌の最適pHから離れているものは同じ天然農薬でも濃度を薄めると枯草菌の繁殖を妨げないと思案した。

《実験3の結果》

草木灰、葉ネギ液の培地ではろ紙の周りに納豆菌のコロニーが集まっているのが確認でき、阻止円は見られなかった。木酢酢の培地では、ろ紙に関わらず全体的に枯草菌が繁殖していた。酢の培地では、ろ紙の周辺にだけコロニーが見られず、ろ紙を避けるようにして、枯草菌が繁殖しており阻止円が見られた。唐辛子にんにく液では、枯草菌が全体には繁殖せず、ろ紙の周りにのみ繁殖していることがわかった。

図4-1 実験3の培養後の培地の様子



《実験3の考察》

草木灰、葉ネギ液、唐辛子にんにく液は枯草菌の働きを妨げず、更に枯草菌の繁殖を助ける効果が得ると考える。木酢酢も枯草菌の繁殖を助けるほどの効果はないが、枯草菌の繁殖を妨げないと思索した。酢の場合は、周りに枯草菌が繁殖していない点より、枯草菌の繁殖を妨げると考えた。また、実験2と比べて、草木灰が実験3では繁殖を妨げていなかったりと同じ天然農薬でも結果が異なることから、天然農薬の濃度によってpHが変化しているため、枯草菌の繁殖の仕方が変化したと思索した。

《実験4の結果》

下図より、枯草菌や天然農薬を含んでいないかいわれ大根の長さが最も長くなった。続いて枯草菌のみ、木酢酢を加えたものの順に茎の長さが長くなり、唐辛子にんにく液、酢、葉ネギ液を加えたものの茎の長さはあまり変わらなかった。また、草木灰を加えたものが最も茎が成長しなかった。実験2、3と異なり、天然農薬を加えたものの中で枯草菌のみよりもかいわれ大根が成長したものはなかった。

天然農薬別	長さの平均(cm) ▼
何ものなし	8.36
枯草菌のみ	7.23
木酢酢	6.28
唐辛子にんにく液	4.83
酢	4.81
葉ネギ液	4.41
草木灰	3.63

図5-1 かいわれ大根の茎の長さ

《実験4の考察》

天然農薬と枯草菌を加えたものの中で比べると木酢酢が最も枯草菌の繁殖を妨げないことがわかった。実験4だけでは原因をはっきり特定することができなかったが、実験2、3のように天然農薬の種類によって結果に差が生じなかったのは実際に使用する際の天然農薬の濃度では枯草菌の繁殖に影響を与えないと考えた。

4. 結論

本研究では、持続可能な農業における枯草菌の有効活用を探るため枯草菌の働きを妨げない天然農薬を明らかにする実験を行ってきた。実験1,2では、それぞれの天然農薬を、LB培地に塗り広げ、枯草菌を繁殖させた。また、実験3では、阻止円を用いた実験を行った。実験1では、各サンプル間で、有用な差が見られなかった。これは、枯草菌の濃度が高すぎたため、出なかったからだと考えられる。差実験2と実験3では同じ天然農薬でも枯草菌の働きを妨げたり妨げなかったりする場合があったので、天然農薬の濃度すなわちpHが枯草菌の繁殖に関係しており、同じ天然農薬の中ではpHが中性に近づくほど枯草菌が繁殖しやすいといえる。次に、実験4では、天然農薬と枯草菌を利用してかいわれ大根を培養土で育てた。この実験では、土壌の実験で天然農薬によって成長が大きく変化することはなかったため、天然農薬の種類ではなく濃度が枯草菌の繁殖に関係があると考えた。したがって、濃度を調整した天然農薬ならばどの天然農薬でも枯草菌の繁殖を妨げないと結論付けた。よって、実際の農業においては、適正な濃度に調整した天然農薬を使い分けたほうが農業の質を向上させるといえる。本研究では1種類の植物でしか実験ができていないので今後の展望として他の性質を持つ植物を用いて同様の実験を行いたい。

5. 参考文献ならびに参考Webページ

- ①kanto Reagents.”LB培地、造粒タイプ”2023-4-5
https://www.kanto.co.jp/dcms_media/other/BBz-06.pdf
- ②静岡県浜松西高等学校科学研究部.”枯草菌が産生する抗生物質に関する研究”2023-2-16
<https://gakusyu.shizuoka-c.ed.jp/science/sonota/ronnbunshu/R4/223091.pdf>
- ③畠山潤子.”天然農薬の作り方と使い方”2022-6-15
<https://allabout.co.jp/gm/gc/72801/#1>
- ④(株)谷井農機.”自然農薬”
<https://tanii.net/free/einou>
- ⑤中西載慶.”微生物利用”
“かいわれ大根の育て方”2021-8-14
<https://plantersaien.com/kaiware/>
- ⑥チバニアン兼業農学校”枯草菌の特徴と応用を徹底解説”2023-2-16
<https://chibanian.info/20240429-136/>
- ⑦バイオコロニーショップ和歌山”枯草菌について”
www.aikis.or.jp/~eiji-ito/bioBs.htm